

**PENGARUH TERAPI EKSTRAK AIR BIJI PETAI
CINA (*Leucaena leucocephala*) TERHADAP KADAR
KOLESTEROL TOTAL DAN HISTOPATOLOGI
AORTA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
MODEL HIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI

Oleh :
TYAR JATU ALMIRA
115130105111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH TERAPI EKSTRAK AIR BIJI PETAI
CINA (*Leucaena leucocephala*) TERHADAP KADAR
KOLESTEROL TOTAL DAN HISTOPATOLOGI
AORTA TIKUS (*Rattus norvegicus*)
MODEL HIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
TYAR JATU ALMIRA
115130105111002



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Pengaruh Terapi Ekstrak Air Biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala*)
Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Histopatologi Aorta Tikus
(*Rattus norvegicus*) Model Hiperlipidemia

Oleh :

TYAR JATU ALMIRA

115130105111002

Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji
pada tanggal 09 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II


Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP.19600903 198802 2 001


drh. Dyah Aya OAP., M.Biotech

NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

iii

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Tyar Jatu Almira

NIM : 115130105111002

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulisan Skripsi Berjudul :

Pengaruh Terapi Ekstrak Air Biji Petai cina (*Leucaena leucocephala*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Histopatologi Aorta Pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperlipidemia

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2018

Yang Menyatakan,



(Tyar Jatu Almira)

NIM. 115130105111002

**Pengaruh Terapi Ekstrak Air Biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala*)
Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Histopatologi Aorta Tikus
(*Rattus norvegicus*) Model Hiperlipidemia**

ABSTRAK

Hiperlipidemia merupakan peningkatan konsentrasi lipid (trigliserida, kolesterol ataupun keduanya). Pemberian pakan tinggi lemak merupakan salah satu penyebab terjadinya hiperlipidemia. Kondisi tersebut menyebabkan meningkatnya kadar LDL, kolesterol total serta kerusakan organ aorta. Pengendalian hiperlipidemia dapat dilakukan dengan konsumsi antioksidan. Ekstrak Air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) mengandung flavonoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) terhadap kadar kolesterol total dan histopatologi aorta hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus jantan, strain Wistar umur 10-12 minggu dengan berat badan 110-130 gram. Pembuatan keadaan hiperlipidemia dilakukan dengan cara pemberian diet *Propiltiourasil* (PTU) 0,02 % dan kuning telur 10 ml/kg BB yang diberikan secara *force feeding* selama 10 hari, sedangkan pemberian terapi ekstrak air biji petai cina dengan dosis 0,25 g/kg BB, 0,5 g/kg BB dan 1 g/kg BB diberikan secara oral selama 14 hari. Pengukuran kadar kolesterol total menggunakan metode CHOD-PAP (*Enzymatic-spechtophotometric*) dan pembuatan preparat histopatologi aorta menggunakan metode pewarnaan *Hematoksin Eosin* (HE). Analisis data kuantitatif menggunakan *one way Analisis of Variance* (ANOVA) dengan uji lanjutan Tukey ($\alpha = 5\%$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak air biji petai cina mampu menurunkan kadar kolesterol total secara signifikan ($p < 0,05$). Dosis 1 g/kg BB merupakan dosis terbaik dalam menurunkan kadar kolesterol total serta dapat memperbaiki kerusakan aorta tikus model hiperlipidemia. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak air biji petai cina dapat menurunkan kadar kolesterol total dan memperbaiki kerusakan aorta pada hewan model tikus hiperlipidemia..

Kata Kunci : Biji Petai cina, Hiperlipidemia, Histopatologi Aorta, Kolesterol Total

**The Effect of *Leucaena*'s seed (*Leucaena leucocephala*) Water Extract
Therapy to Total Cholesterol Levels and Aorta
Histopathology Hyperlipidemia Rats
(*Rattus norvegicus*)**

ABSTRACT

Hyperlipidemia was an increasing concentration of lipids (triglycerides, cholesterol, or both). Fatty food and *propiltiourasil* (PTU) caused hyperlipidemia which followed by the increasing of LDL, total cholesterol level and aorta histopatology. Hyperlipidemia animal model was done by consumption of antioxidants. Water extract of the leucaena's seeds (*Leucaena leucocephala*) contains flavonoids used as antioxidants. The aim of this research was to know the effect of leucaena's seed (*Leucaena leucocephala*) water extract based on decreasing total cholesterol levels and aorta histopathology changes confirmed by reducing of fat accumulation on rat (*Rattus norvegicus*). This study used 20 rats, Wistar strain aged of 10-12 weeks with 110-130 grams of body weight. Hyperlipidemia animal model was done by giving Propylthiouracil (PTU) 0.02% and egg yolks 10 mL / kg BW administered by force feeding for 10 days, while the water extract of *Leucaena*'s seed therapy dose 0.25 g/kg BW, 0.5 g/kg BW and 1 g/kg BW given orally for 14 days. The parameters observed in this study was Total Cholesterol levels and aorta histopathology. Measurement of Total Cholesterol was calculated by using CHOD-PAP methods (Enzymatic-spechtophotometric) and aorta histopathology were stained using Hematooksilin Eosin methods (HE). The analysis of quantitative data using one way Analysis of Variance (ANOVA) followed by Tukey test ($\alpha = 5\%$). The results showed that water extract of leucaena's seed therapy could reduce total cholesterol significantly ($p < 0,05$). Dose of 1 g/kg BW was the better dose of this research that reduced total cholesterol levels. Water extract of *Leucaena*'s seed had repair aorta histopathology. Conclusion this study was water extract of leucaena's seed therapy could decrease the total cholesterol levels and repair aorta histopathology of hyperlipidemia rats.

Keywords: *Aorta histopathology, Hyperlipidemia, Leucaena's seed, Total cholesterol*

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kehadiran Tuhan yang Maha Kuasa, karena atas rahmat, karunia dan HidayahNya, Skripsi yang berjudul **“Pengaruh Terapi Ekstrak Biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Gambaran Histopatologi Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperlipidemia”** dapat selesai disusun dengan baik.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya proposal skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan baik moril maupun materiil dari semua pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku dosen pembimbing satu yang dengan sabar telah membimbing, memberikan dorongan, bimbingan dan masukan yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
2. drh. Dyah Ayu OAP., M.Biotech, selaku dosen pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing, memberikan dorongan, bimbingan dan masukan yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
3. drh. Aulia Firmawati., M.Vet. selaku dosen penguji pertama atas saran dan kritiknya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan
4. drh. Wawid Purwatiningsih., M.Vet. selaku dosen penguji kedua atas saran dan kritiknya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan
5. Keluarga penulis, Ibu, Alm. Bapak, dan adik tercinta yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa yang tiada henti.
6. Teman-teman angkatan 2011 yang selalu semangat dalam berjuang bersama serta semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan hasil penelitian skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	5
1.5 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Hiperlipidemia	6
2.2 Hubungan Kadar Kolesterol Total dengan Hiperlipidemia	7
2.3 Patomekanisme Hiperlipidemia.....	8
2.4 Pembuluh Darah Aorta pada Hiperlipidemia	9
2.5 Bioaktif Biji Petai cina	13
2.6 Hewan Model Tikus	14
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual.....	17
3.2 Hipotesis Penelitian	20

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
4.2 Bahan dan Alat Penelitian	21
4.3 Tahapan Penelitian.....	22
4.4 Prosedur Kerja	23

V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kadar Kolesterol Total Tikus Hiperlipidemia Setelah Pemberian Ekstrak Air Biji Petai cina	33
5.2 Gambaran Histopatologi Aorta pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Hiperlipidemia Setelah Pemberian Ekstrak Air Biji Petai cina dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)	37

VI KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan.....	43
6.2 Saran	43

DAFTAR PUSTAKA	44
-----------------------------	----

LAMPIRAN	47
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan penelitian	24
5.1 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Penelitian	35
2. Preparasi Hewan Model Hiperlipidemia	36
3. Ekstrak Air Biji Petai cina	37
4. Koleksi Serum dan Pengambilan Pembuluh Darah Aorta	42
5. Pembuatan Preparat Histopatologi	43
6. Reagen untuk Uji BCG	46



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
ANOVA	<i>Analisis of Variant</i>
g	gram
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HE	<i>Hematoksin Eosin</i>
kg	Kilogram
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	Lipopolisakarida
mg	miligram
ml	mililiter
PFA	<i>Paraformaldehid</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RBF	<i>Renal Blood Flow</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hiperlipidemia merupakan suatu keadaan meningkatnya kadar lipid darah yang ditandai dengan meningkatnya kadar trigliserida, lipoprotein dengan densitas rendah (*Low Density Lipoprotein*), dan kolesterol total dalam batas normal. Kondisi hiperlipid dapat terjadi pada hewan kesayangan, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Panagiotis (2010) hal ini dapat dipengaruhi oleh gaya hidup yaitu dengan pola pemberian pakan tinggi lipid, genetik dan dapat pula dipengaruhi oleh Ras (*Breed*). Ras yang sering terkena hiperlipidemia diantaranya adalah anjing ras *Miniature Schnauzers*, *Doberman Pinschers*, *Rottweilers*, *Beagles*, *Brittany Spaniels*, *puppy* dsb.

Hiperlipidemia dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yakni faktor genetik, usia, jenis kelamin dan pola konsumsi makanan. Kelebihan asupan kalori terutama dari lemak yang jika tidak digunakan untuk beraktivitas dapat menyebabkan kenaikan kadar lemak darah. Diet tinggi lemak terutama kolesterol merupakan penyebab utama terjadinya hiperlipidemia (Tamas *et al.*, 2002).

Peningkatan kadar LDL dapat memicu terjadinya LDL-oks akibat radikal bebas pada pembuluh darah aorta yang menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi dapat berakibat pada perubahan dinding pembuluh darah aorta (Suryohudoyo, 2000). Oksidasi LDL memicu pembentukan plak (gumpalan dalam pembuluh darah) yang menjadi penyebab utama atherosklerosis, jantung koroner dan stroke (Hirunpanich *et al.*, 2005; James, 2009). Kondisi hiperlipidemia banyak menimbulkan dampak negatif. Oleh karena itu, diperlukan adanya pengaturan pola makan yang sehat dan seimbang. Salah satu cara yang efektif adalah dengan

mengonsumsi makanan yang banyak mengandung antioksidan. Antioksidan memiliki sifat dapat menetralkan radikal bebas penyebab penyakit yang diakibatkan oleh kondisi hiperlipidemia seperti atherosklerosis (Lautan, 1997).

Berdasarkan hasil survei dari beberapa jurnal *case report* menunjukkan terapi pada kasus hiperlipidemia dapat dilakukan dengan pemberian obat sintesis dan juga obat tradisional. Terdapat 5 macam golongan obat yang diberikan pada kondisi hiperlipidemia, diantaranya adalah statin, nicotinic acid derivatives, fibric acid derivatives, bile acid binding resins & cholesterol absorption inhibitors. Penggunaan jangka panjang golongan obat tersebut dilaporkan mempunyai efek samping yang berbeda. Sehingga masyarakat memanfaatkan herbal untuk mengobati penyakit gangguan metabolik (Kasper *et al.*, 2005).

Akhir-akhir ini, telah banyak digunakan terapi yang berasal dari senyawa bioaktif yang aman seperti herbal. Penggunaan terapi herbal yang diyakini dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah terutama dengan bahan bioaktif seperti flavonoid, tannin, dan saponin (Carvajal-Zarrabal *et al.*, 2005).

Petai cina merupakan tanaman perdu yang bijinya banyak mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, protein lemak, kalsium, fosfor, besi, asam amino, leukanol. (Chairul, dkk., 2003). Pemanfaatan biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) yang diyakini mengandung antioksidan serta antiinflamasi belum banyak diteliti dapat menurunkan kadar kolesterol total pada tikus hiperlipidemia. Pada penelitian ini mempelajari pengaruh pemberian ekstrak biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) terhadap kadar kolesterol total dan gambaran histopatologi aorta tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia.

1.2. Rumusan Masalah

Sesuai latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan berikut :

1. Apakah pengaruh terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia ?
2. Apakah terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dapat memperbaiki gambaran histopatologi dinding pembuluh darah aorta tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia ?

1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, umur 10-12 minggu dengan berat badan sekitar 110-130 gram yang diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dan telah mendapatkan persetujuan laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya No: 362-KEP-UB (**Lampiran 2**).
2. Pembuatan keadaan hiperlipidemia hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan berdasarkan penelitian Febrina (2009) dengan cara pemberian diet PTU (*Propiltiourasil*) konsentrasi 0,02% dengan volume 10 mL/kg BB sebanyak 1,2 mL/ekor dan kuning telur ayam dengan volume 10 mL/kg BB sebanyak 1,2 mL/ekor secara *force feeding* dengan sonde selama 10 hari.
3. Biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) diperoleh dari pasar Merjosari Malang dan telah dideterminasi kandungan bioaktif biji petai cina (*Leucaena*

leucocephala) di UPT Metrica Medica Batu, Malang (**Lampiran 3**). Metode pembuatan ekstraksi digunakan pelarut air.

4. Dosis terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia diberikan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurhasanah dan Syamsudin (2005) yaitu 0,25 g/kg BB 0,5 g/kg BB dan 1 g/kg BB sebanyak 2 mL/ekor diberikan secara oral selama 14 hari.
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol total diukur menggunakan metode Spektrofotometri dengan pereaksi GPO-PAP serta gambaran histopatologi organ aorta dengan pewarnaan *hemaktosilin* (HE) menggunakan mikroskop cahaya.

1.4. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui peran terapi ekstrak biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dalam menurunkan kadar kolesterol total tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia
2. Mengetahui perbaikan gambaran histopatologis dinding pembuluh darah aorta tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia setelah pemberian ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*)

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan obat herbal dengan memanfaatkan tanaman biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) sebagai terapi hiperlipidemia yang memiliki kandungan antioksidan sehingga dapat menurunkan kadar

kolesterol total dalam darah dan memperbaiki gambaran histopatologi aorta serta menjadikan dasar awal penelitian biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) sebagai terapi hiperlipidemia berikutnya.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Hiperlipidemia

Hiperlipidemia (Hiperlipoproteinemia) adalah suatu keadaan terjadinya peningkatan kolesterol dan/atau trigliserida serum di atas batas normal (Wilson, 2006). Lemak (disebut juga *lipid*) adalah zat yang kaya energi, yang berfungsi sebagai sumber energi utama untuk proses metabolisme tubuh. Lemak diperoleh dari makanan atau dibentuk di dalam tubuh, terutama di hati dan bisa disimpan di dalam sel-sel lemak untuk digunakan dikemudian hari. Sel-sel lemak juga melindungi tubuh dari dingin dan membantu melindungi tubuh terhadap cedera. Lemak merupakan komponen penting dari selaput sel, selubung saraf yang membungkus sel-sel saraf serta empedu. Setiap jenis lipoprotein memiliki fungsi yang berbeda dan dipecah serta dibuang dengan cara yang sedikit berbeda. Misalnya, kilomikron berasal dari usus dan membawa lemak jenis tertentu yang telah dicerna dari usus ke dalam aliran darah. Serangkaian *enzim* kemudian mengambil lemak dari kilomikron yang digunakan sebagai energi atau untuk disimpan di dalam sel-sel lemak. Pada akhirnya, kilomikron yang tersisa (yang lemaknya telah diambil) dibuang dari aliran darah oleh hati.

Kadar lemak yang abnormal dalam sirkulasi darah (terutama kolesterol) bisa menyebabkan masalah jangka panjang. Resiko terjadinya *aterosklerosis* dan *penyakit arteri koroner* atau *penyakit arteri karotis* meningkat pada hewan yang memiliki kadar kolesterol total yang tinggi. Kadar kolesterol rendah biasanya lebih baik dibandingkan dengan kadar kolesterol yang tinggi, tetapi kadar yang terlalu rendah juga tidak baik. Kadar kolesterol total yang ideal untuk manusia

adalah 140-200 mg/dL atau kurang. Jika kadar kolesterol total mendekati 300 mg/dL, maka resiko terjadinya serangan jantung adalah lebih dari 2 kali.

Hiperlipidemia dapat disebabkan faktor primer dan sekunder. Faktor primer dibagi menjadi dua, yakni hiperlipidemia monogenik karena kelainan gen tunggal yang diturunkan (sifat penurunan mengikuti hukum mendel) serta hiperlipidemia poligenik/ multifaktoral. Faktor sekunder dapat disebabkan oleh diet yang tidak seimbang. Diet yang memicu hiperlipidemia salah satunya adalah diet hiperlipidemia. Faktor lain yang dapat mempengaruhi hiperlipidemia adalah obesitas (Ghani *et al.*, 2013).

2.2. Hubungan Kadar Kolesterol Total dengan Hiperlipidemia

Hiperlipidemia dapat ditandai dengan meningkatnya kadar kolesterol total dan LDL. Kolesterol total merupakan jumlah keseluruhan kolesterol pada serum darah. Kolesterol di dalam darah beredar tidak dalam keadaan bebas, akan tetapi berada dalam partikel-partikel lipoprotein. Lipoprotein merupakan senyawa kompleks antara lemak dan protein. Dalam serum darah, lipoprotein terdiri dari 4 jenis yaitu kilomikron, *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan *High Density Lipoprotein* (HDL) (Soehardi, 2004). Kilomikron mengandung 1,75% kolesterol, VLDL mengandung 15% kolesterol, HDL mengandung 18% kolesterol, dan LDL mengandung 45% kolesterol (Cheng dan Hardi, 2004).

Low Density Lipoprotein (LDL) berfungsi mengangkut kolesterol dari sel yang satu ke sel lainnya. LDL mengandung kolesterol paling tinggi, sehingga apabila kadar HDL di dalam serum darah rendah maka kolesterol yang dimetabolisme relatif sedikit yang menyebabkan banyak plak yang tertimbun, sehingga terjadi hiperlipidemia (Cheng dan Hardi, 2004).

2.3. Patomekanisme Hiperlipidemia

Lemak yang berasal dari makanan akan dicerna di dalam usus menjadi asam lemak bebas, trigliserida, fosfolipid, dan kolesterol kemudian diabsorpsi dan ditransportasikan oleh darah. Lipoprotein merupakan alat pengangkut lipid dalam darah. Lipid merupakan komponen yang tidak dapat larut dalam darah sehingga harus berikatan dengan protein untuk membentuk senyawa yang larut dalam darah (Murray *et al.*, 2003). Lipoprotein yang terdapat di dalam tubuh, antara lain (Almatsier, 2004) :

a. Kilomikron

Lipoprotein terbesar yang mengandung lipid dan protein. Enzim lipoprotein lipase akan membantu proses lipolisis menjadi asam lemak dan gliserol.

b. *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL)

Lipoprotein dengan intensitas sangat rendah yang terutama terdiri atas trigliserida. VLDL meninggalkan hati yang kemudian akan mengikat kolesterol pada lipoprotein lain dalam sirkulasi darah.

c. *Low Density Lipoprotein* (LDL)

Lipoprotein dengan densitas rendah dan dapat menimbulkan plak apabila banyak tertimbun darah. Dnsitas yang rendah menyebabkan molekul LDL dioksidasi sehingga kolesterol akan menumpuk membentuk plak dan akhirnya berkembang menjadi aterosklerosis.

d. *High Density Lipoprotein* (HDL)

Lipoprotein dengan densitas tinggi yang berfungsi mengambil kolesterol dan fosfolipid yang ada dalam aliran darah untuk diangkut kembali ke hati agar dapat diedarkan kembali atau dikeluarkan dari tubuh.

Kilomikron diabsorpsi melalui dinding usus halus dan masuk ke dalam aliran darah. Lipid yang diangkut terutama trigliserida yang akan dipecah menjadi gliserol dan asam lemak bebas oleh enzim lipoprotein lipase (Wresdiyati dkk., 2006). Asam lemak yang terbentuk di dalam tubuh sebagian besar diabsorpsi oleh sel-sel otot, sel lemak, dan sel-sel lain. Trigliserida sebagian dipisahkan dari kilomikron dan sisanya akan dibawa ke hati dan mengalami metabolisme. Lipida selanjutnya dipersiapkan menjadi lipoprotein yang dibentuk dalam hati, yaitu VLDL. VLDL akan meninggalkan hati dan mengikat lipid yang ada pada lipoprotein lain dalam sirkulasi darah. VLDL akan bertambah berat dan berubah menjadi LDL (Almatsier, 2004). Pembentukan LDL oleh reseptor penting dalam pengontrolan lipid dalam darah pada kondisi hiperlipidemia. Pembuluh darah memiliki sel-sel yang dapat merusak LDL dan melalui sel ini maka molekul LDL akan dioksidasi sehingga tidak dapat masuk kembali ke dalam aliran darah (Prasetyo, 2006).

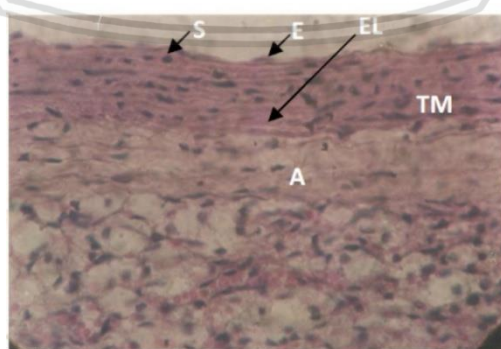
Pada pasien hiperlipidemia, jumlah sisa LDL yang masuk ke dalam sel menjadi berlebih dalam darah. Akibatnya banyak lipid yang masuk melalui makanan sehingga tidak mampu dibawa oleh HDL menuju hepar untuk dimetabolisme yang dapat memicu terjadinya LDL-oks yang dapat mengendap di pembuluh darah sehingga terjadi penyumbatan pembuluh darah hingga atherosclerosis (Baigent & Clarke, 2008).

2.4. Pembuluh Darah Aorta Pada Hiperlipidemia

Secara histologis, dinding pembuluh darah terdiri atas tiga lapis berturut-turut dari dalam keluar yaitu tunika intima, tunika media dan tunika adventisia. Bagian tunika intima yang berhubungan dengan lumen pembuluh darah adalah sel endotel. Pada pembuluh darah yang lebih besar, sel-sel endotel ini dilapisi oleh jaringan ikat longgar yang disebut jaringan sub endotel. Tunika media terdiri dari sel-sel otot polos dan jaringan ikat yang tersusun konsentris dikelilingi oleh serabut kolagen dan elastis. Tunika

media dipisahkan dari tunika intima oleh suatu membrane elastis yang disebut lamina elastica interna, dan dari tunika adventisia oleh lamina elastica externa. Kedua lamina ini tersusun dari serabut elastis dimana celah antara serabut –serabut tersebut dapat dilewati oleh zatkimia dan sel darah. Tunika adventisia terdiri dari jaringan ikat yang tersusunlongitudinal dan mengandung sel-sel lemak, serabut syaraf dan pembuluh darahkecil yang memperdarahi dinding pembuluh darah (vasa vasorum) (Janquiera, 1997).

Studi histopatologi pembuluh darah aorta pada pasien hiperlipidemia menjelaskan bahwa hiperlipidemia mempengaruhi perubahan seluler akibat infiltrasi sel inflamatori pembuluh darah aorta yang dapat menyebabkan atherosclerosis. Pembuluh darah aorta adalah pembuluh darah besar bagian dari sistem sirkulasi sistemik, yang keluar dari jantung dan berfungsi untuk membawa darah dari jantung yang berisi oksigen ke pembuluh arteri. Pembuluh darah aorta memiliki percabangan berupa arteri yang berfungsi membawa ke seluruh tubuh. Pembuluh darah aorta memiliki lapisan dinding yang tebal (Edminster *et al*, 2008). Gambaran histologis pembuluh darah aorta dapat dilihat pada gambar 2.1. Lapisan tersebut terdiri dari *tunika intima*, *smooth muscle cell*, *elastic fibre tunika media*, dan *tunika adventitia* (Ikechukwu *et al.*, 2009).



Gambar 2.1

Histologis Aorta Normal pada Perbesaran 400x
(Ikechukwu *et al.*, 2009)

Gambaran

Dalam keadaan normal, tunika intima terdiri dari sel selapis pipih, tunika media terdiri dari sel otot polos, sedangkan tunika adventitia terdiri dari serabut kolagen, pembuluh darah dan jaringan ikat. Patomekanisme yang terjadi akibat inisiasi dari diet hyperlipidemia dimulai dari keadaan kolesterol darah meningkat. Kadar kolesterol yang berlebihan menyebabkan proses metabolisme akan terganggu, sehingga kolesterol tersebut menumpuk di hati. Kolesterol yang masuk ke dalam hati tidak dapat diangkut seluruhnya oleh lipoprotein menuju ke hati dari aliran darah di seluruh tubuh. Keadaan tersebut membuat kadar kolesterol total dan LDL meningkat (Herpandi, 2005).

Ketika kolesterol total dan LDL meningkat, maka akan membuat kadar HDL turun. Karena HDL akan meningkat apabila kadar protein dalam darah naik dan kadar lemak dalam darah turun. HDL berfungsi sebagai pengangkut kolesterol dalam darah dari jaringan tubuh ke hati (Braunwald, 2007). LDL yang ada dalam darah akhirnya menempel dan akan menumpuk pada dinding pembuluh darah memicu adanya ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga terjadi LDL oksidasi (Herpandi, 2005).

LDL oksidasi akan menimbulkan reaksi inflamasi pada dinding pembuluh darah. Reaksi inflamasi menginisiasi sel imunokompeten seperti limfosit, monosit dan makrofag. Reaksi imunologi dan luka endotel menyebabkan adanya vasodilatasi, sehingga sel endotel terganggu dan permeabilitas sel-sel endotel yang memberikan celah terhadap berbagai bahan di dalam darah sehingga sel inflamasi dan lemak memiliki akses ke dalam tunika adventitia. Luka pada sel endotel mengakibatkan reaksi inflamasi dan imunitas, sehingga terjadi pelepasan peptida-peptida vasoaktif, penimbunan makrofag, penimbunan sel inflamasi di dalam tunika adventitia (Taylor, 2005).

2.5. Bioaktif Biji Petai cina

Sistematika tumbuhan petai cina adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: fabales
Famili	: Mimosaceae
Genus	: Leucaena
Spesies	: <i>Leucaena leucocephala</i> .

Nama umum tumbuhan adalah petai cina. Tumbuhan ini dikenal masyarakat Indonesia dengan nama daerah yaitu : pete cina , pete selong (Sumatera), pete selong (Sunda), peutey, selamtara, pelending, kamalandingan, (Jawa), kalandingan (Madura). Nama asing petai cina adalah Yin he huan (C), wild tamarind (L) dan nama simplisia petai cina adalah semen leucaenae glaucae (biji petai cina) (Yuniarti, 2008)

Petai cina merupakan perdu ataupun pohon kecil dengan tinggi 2-10 m, memiliki batang pohon keras dan berukuran tidak besar serta batang bulat silindris dan bagian ujung berambut rapat. Daun majemuk terurai dalam tangkai, menyirip genap ganda dua sempurna, anak daun kecil-kecil terdiri dari 5-20 pasang, bentuknya lanset, ujung runcing, tepi rata, panjang 6-21 mm dan lebar 2-5 mm. Bunga majemuk terangkai dalam karangan berbentuk bongkol yang bertangkai panjang dan berwarna putih kekuningan atau sering disebut cengkaruk. Buahnya mirip buah petai (*parkia speciosa*) tetapi ukurannya jauh lebih kecil dan

berpenampang lebih tipis, termasuk buah polong yang berisi biji – biji kecil dengan jumlah cukup banyak, pipih, dan tipis bertangkai pendek, panjang 10-18 cm, lebar 2 cm dan diantara biji ada sekat. Biji terdiri dari 15-30 butir, letak melintang, bentuk bulat telur sungsang, panjang 8 mm, lebar 5 mm, berwarna coklat kehijauan atau coklat tua dan licin mengkilap.

Petai cina dipakai untuk pupuk hijau dan sering ditanam sebagai tanaman pagar sedangkan daun muda, tunas bunga, dan polong bisa dimakan sebagai lalap mentah ataupun dimasak terlebih dahulu. Perbanyakkan selain dengan penyebaran biji yang sudah tua juga dapat dilakukan dengan cara stek batang.(Dalimarta, 2000)

Dalimartha (2000) menyatakan bahwa biji petai cina mengandung mimosin, leukanin, leukanol, flavonoid dan protein. Daun mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, tanin, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, serta vitamin (A, B, C).

2.6. Hewan Model Tikus

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus yaitu *Rattus norvegicus* strain wistar yang memiliki klasifikasi sebagai berikut (Armitage, 2004).

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Murida
Sub-Famili	: Murinae

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.2 *Rattus norvegicus* strain Wistar (Kusumawati, 2004)

Kelebihan dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) yaitu dapat berkembang biak secara cepat, dan dalam jumlah yang cukup banyak. Tikus putih mudah dikendalikan dan dapat diambil darahnya dalam jumlah yang relatif besar dikarenakan ukurannya yang relatif besar (Kusumawati, 2004). Ciri-ciri tikus putih (*Rattus norvegicus*) yakni panjang tubuh total 340 mm, panjang ekor 105 mm, bobot badan 140-500 gr (Armitage, 2004). Rahayu (2007) menyatakan bahwa bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) peka terhadap pengaruh kolesterol jika diberikan perlakuan terhadap komponen dietnya.

Tikus berbeda dengan mencit sebagai hewan coba pengukuran kadar kolesterol total dan gambaran histopatologi aorta, karena ukuran dan organ tubuh tikus lebih besar daripada mencit, sehingga lebih mudah untuk dilakukan isolasi aorta. Tikus dan kelinci merupakan hewan model yang paling sering digunakan untuk mengetahui kelainan metabolisme kolesterol pada manusia (West et al., 2004). Hal ini dikarenakan aktifitas enzim kolesterol 7 α -hidroksilase lebih tinggi pada tikus dibandingkan pada kelinci. Murray (2000) memaparkan bahwa enzim ini dapat mempercepat proses katabolisme kolesterol hati menjadi asam empedu, sehingga mempercepat pengeluaran kolesterol di dalam tubuh. West & Fernandes

(2004) menyatakan penggunaan kelinci sebagai hewan coba relatif lebih mahal dan data yang diperoleh sulit untuk diterjemahkan karena perubahan kenaikan dan penurunan konsentrasi kolesterol yang ekstrim ketika diberi perlakuan obat.



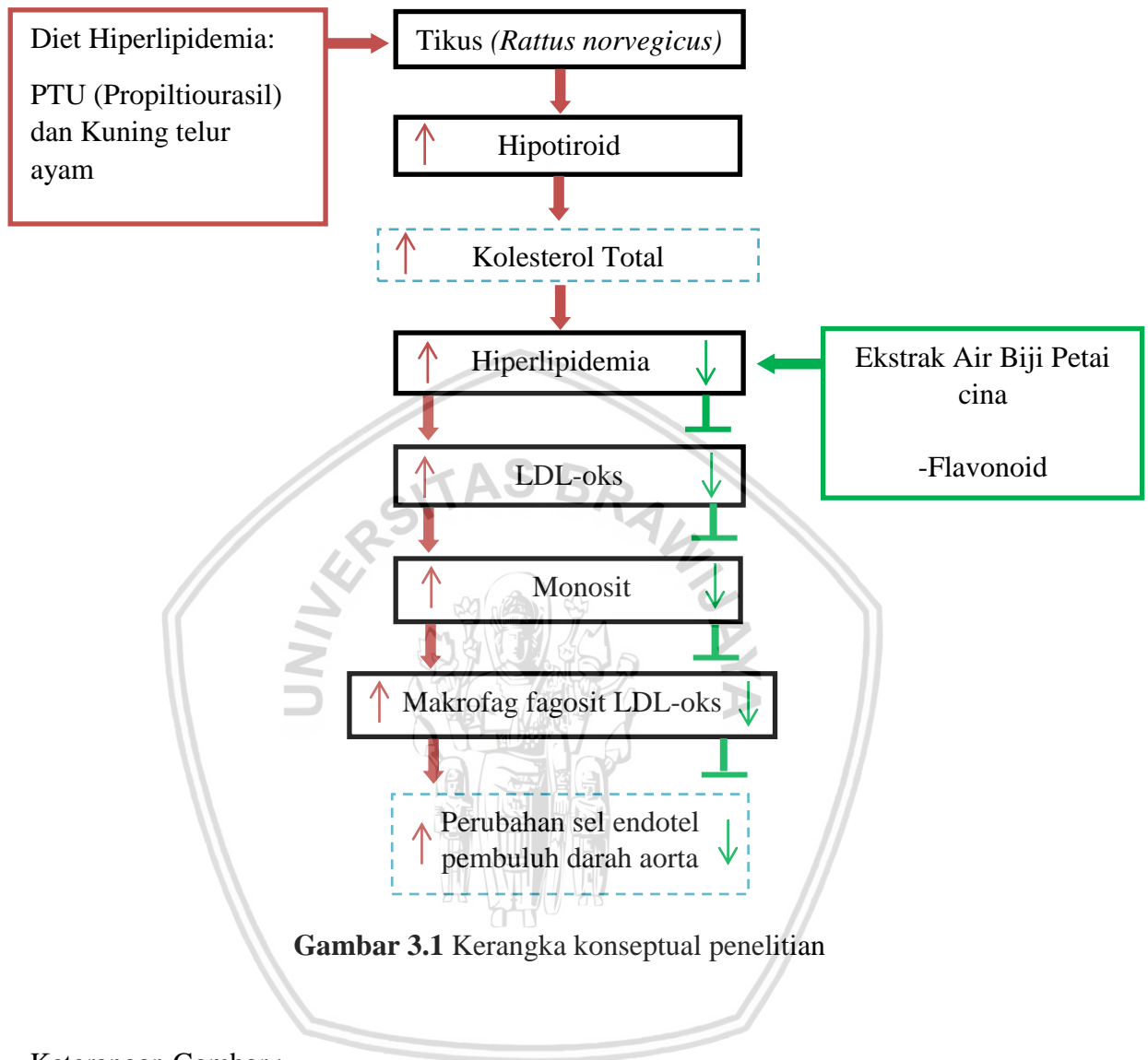
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual

Hiperlipidemia merupakan suatu penyakit gangguan metabolisme akibat oleh tingginya diet hiperlipidemia. Diet hiperlipidemia pada pakan mengakibatkan metabolisme lipid menjadi terganggu. Intake lipid melalui pakan akan diserap pada saluran cerna. Lipid yang diserap oleh usus dibawa ke jaringan ekstrak hepatic untuk dihidrolisis untuk selanjutnya dibawa ke hepar. Kilomikron sebagai transport lipid yang masuk ke hati disintesa menjadi *High Density Lipoprotein* (HDL) dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). Selanjutnya, VLDL diubah menjadi IDL dan kemudian menjadi LDL. LDL yang diperoleh dari diet hiperlipid masuk ke jaringan periperal, kulit, dan kelenjar endokrin untuk mengedarkan lipid ke sel-sel jaringan melalui darah untuk digunakan di dalam sel. Sisa LDL dalam darah dibawa menuju hepar untuk disintesa menjadi asam empedu. Sisa kolesterol yang tinggi tidak mampu dibawa kembali ke hepar oleh HDL dan memicu terjadinya oksidasi LDL akibat radikal bebas menjadi LDL-oks dan reaksi inflamasi. Respon inflamasi yang terlihat dari aktivasi sel endotel leukosit dan monosit. Leukosit akan muncul di sepanjang lumen dan dinding sel sehingga terjadi peningkatan permeabilitas. Peningkatan monosit menyebabkan monosit menempel pada endotel, penempelan endotel ini diperantarai oleh beberapa molekul adhesi pada permukaan sel endotel, yaitu *intercellular adhesion molecular – 1* (ICAM-1). *Vaskuler sel adhesi molekuler -1*

(VCAM-1) dan *Selectin* kemudian monosit berdiferensiasi menjadi makrofag. Peningkatan makrofag menyebabkan munculnya protein proinflamasi seperti dan marker inflamasi terutama Interleukin – 6 (IL-6) dan *tumor necrosis factor* (TNF). TNF α berpengaruh pada sel endotel menyebabkan perubahan susunan sel dan abnormalitas struktur sel endotel (Faraci, 2004 ; Ungvari et al , 2003).

Makrofag berfungsi menangkap akumulasi LDL dan LDL-oks melalui reseptor Scavenger (Scavenger sel) (Junaidi, 2000). Proses masuknya makrofag memicu pelepasan O₂ reaktif dan menginaktifkan *nitric oxide* (NO) sehingga terjadi kerusakan sel endotel (Silbernagl dan Florian., 2003). Salah satu upaya yang diperlukan untuk terapi hiperlipidemia adalah mengurangi kadar lipid dalam darah dan peran antioksidan dalam menekan terjadinya oksidasi LDL hasil reaksi inflamasi. Kandungan senyawa aktif biji petai cina adalah flavonoid , asam amino, leukanol dan minyak lemak. Flavonoid dapat menurunkan kadar lipid dan LDL dalam darah dengan cara meningkatkan sintesa asam empedu. Flavonoid juga berperan sebagai antioksidan yang dapat menekan surplus radikal bebas yang mengakibatkan oksidasi LDL dan sebagai anti inflamasi yang dapat menghambat reaksi inflamasi, sehingga mencegah makin banyaknya makrofag yang masuk ke subintima. Adapun kerangka teori dapat dilihat pada bagan berikut.



Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian

Keterangan Gambar :

 : Variabel yang diamati

 : Variabel Bebas

 : Variabel Bebas

↕ : Efek diet hiperlipidemia

↕ : Efek terapi ekstrak air biji petai cina

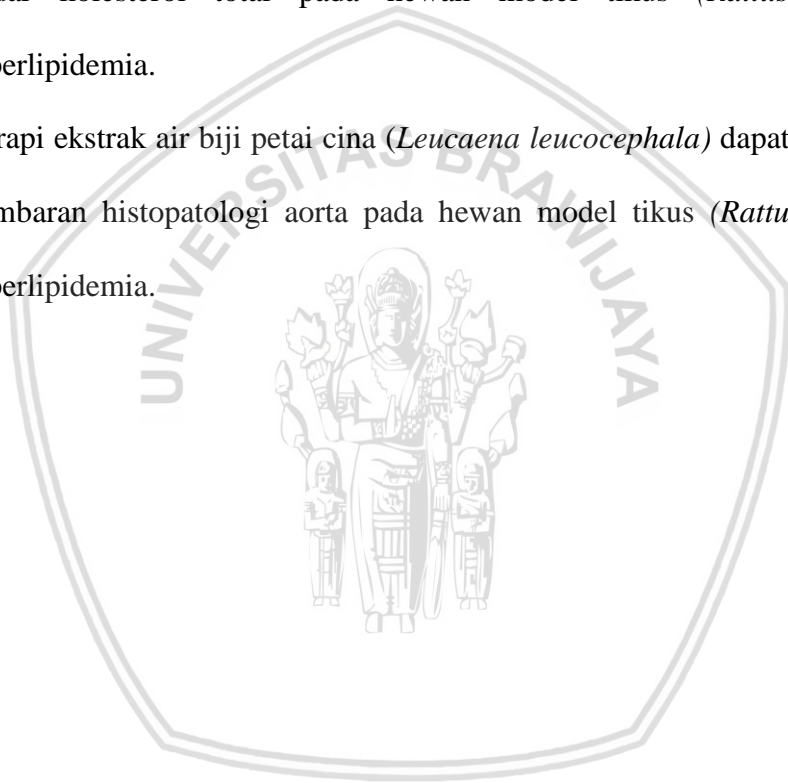
➡ : Menghambat

⊥ : Menstimulus

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dapat menurunkan kadar kolesterol total pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia.
2. Terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dapat memperbaiki gambaran histopatologi aorta pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia.



BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia Fakultas Kimia Politeknik Negeri Malang, dan Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya. Waktu penelitian ini yaitu pada bulan Maret sampai dengan bulan April 2015.

4.2. Bahan dan Alat Penelitian

4.2.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar umur 10 – 12 minggu dengan berat badan 130 – 180 gram, pakan standar BR-1, kuning telur, Propiltiourasil (PTU) 0,02%, biji petai cina (*Leucaena leucocephala*), NaCl fisiologis 0,9%, paraformaldehid (PFA) 4%, alkohol bertingkat 80%, 90%, 95%, alkohol absolute, alkohol xylol, larutan xylol murni, parafin cair, pewarna hematoksin eosin (HE), balsem Canada, serum, Reagent (Acetate buffer 100 mmol/L, Bromocresol Green 0,27 mmol/L, detergent).

4.2.2. Alat Penelitian

Peralatan yang diperlukan dalam penelitian ini, antara lain kandang tikus, timbangan, scalpel, penangas air, sonde lambung, spuit, sentrifuse, tabung

ependorf, pipet mikro, yellow tip dan blue tip, tabung reaksi, rak tabung, kaca objek dan kaca penutup, mikrotom potong beku, dan mikroskop Olympus BX51, *spectrophotometer* (Biosystem Type A15).

4.3. Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu :

1. Rancangan penelitian dan preparasi Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)
2. Perhitungan dosis ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*)
3. Preparasi ekstrak kering biji petai cina (*Leucaena leucocephala*)
4. Pembuatan ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*)
5. Preparasi hewan model Hiperlipidemia dengan PTU 0,02% dan kuning telur
6. Terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*)
7. Pengambilan serum darah tikus dan pengambilan aorta tikus (*Rattus norvegicus*)
8. Pengukuran kadar kolesterol total
9. Pembuatan preparat histologi aorta dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE)
10. Analisa data

4.4. Prosedur Kerja

4.4.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan model dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu kelompok (A) tikus kontrol negatif, yakni kelompok tikus tanpa perlakuan, kelompok (B) tikus kontrol positif yaitu kelompok tikus hiperlipidemia tanpa diberi terapi ekstrak air biji petai cina, kelompok (C) tikus hiperlipidemia dan diberi terapi ekstrak air biji petai cina dengan dosis 0,25 g/kg BB, kelompok (D) tikus hiperlipidemia dan diberi terapi ekstrak air biji petai cina dengan dosis 0,5 g/kg BB, kelompok (E) tikus hiperlipidemia dan diberi terapi ekstrak air biji petai cina dengan dosis 1 g/kg BB. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari empat ekor tikus sebagai ulangan. Pengukuran kadar kolesterol total dilakukan secara *pre examination* dan *post examination*. *Pre examination* dilakukan untuk mengetahui bahwa tikus yang digunakan adalah tikus normal yang tidak hiperlipidemia. *Post examination* digunakan untuk mengetahui terapi hiperlipidemia. Diagram alir kerangka operasi dapat dilihat pada **Lampiran 3** dan rancangan penelitian ditunjukkan pada **Tabel 4.1**, adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : Diet Hiperlipidemia dan Dosis ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*)

Variabel tergantung : Kadar kolesterol total dan gambaran histopatologi aorta

Variabel kendali : Jenis kelamin, umur, dan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar dan kondisi eksperimental (suhu, kandang, ruangan, minum)

Tabel 4.1 Rancangan penelitian

Variabel yang Diamati Kadar Kolesterol Total dan Histopatologi Aorta	Ulangan			
	1	2	3	4
Kelompok A (kontrol negatif)				
Kelompok B (Hiperlipidemia)				
Kelompok C (Terapi dosis 0,25 g/kg BB)				
Kelompok D (Terapi dosis 0,5 g/kg BB)				
Kelompok E (Terapi dosis 1 g/kg BB)				

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar, jantan, dengan berat badan 110 – 130 gram dan berumur 10 – 12 minggu. Tikus yang digunakan adalah tikus sehat yang ditandai dengan nafsu makan baik dan perilaku normal. Tikus diadaptasikan untuk menyesuaikan kondisi laboratorium selama 7 hari (Lamanepa, 2005). Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan rumus Kusningrum (2008) sebagai berikut :

$$P(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk perlakuan sebanyak 5 macam diperlukan jumlah sampel atau ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok atau sebanyak minimal 4 hewan coba. Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

yang digunakan dalam penelitian ini diadaptasikan selama 7 hari dengan pakan standar dan dikandangkan dalam 5 kandang kelompok A, B, C, D, dan E dengan jumlah masing-masing kelompok 4 ekor. Tikus dikandangkan dalam kandang berukuran 17,5 x 23,75 x 17,5 cm. Kandang terbuat dari bak plastik yang dilengkapi penutup kawat, berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya.

4.4.2. Penentuan dosis ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*)

Terapi ekstrak air biji petai cina dilakukan pada kelompok C, D, dan E. Dosis biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) diberikan berdasarkan penelitian Syamsudin dan Nurhasanah (2005) yang memanfaatkan biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) sebagai terapi diabetes melitus yang terdiri dari tiga macam dosis, yaitu 0,25 g/kg BB, 0,5 g/kg BB, dan 1 g/kg BB. Sehingga pada penelitian ini dosis terapi yang diberikan pada kelompok C 0,25 g/kg BB/hari, pada kelompok D 0,5 g/kg BB/hari, dan pada kelompok E 1 g/kg BB/hari. Berdasarkan dosis tersebut, maka dengan berat tikus 120 gram diberikan dosis sebanyak 30 mg/ekor/hari pada kelompok C, sedangkan pada kelompok D dosis yang diberikan 60 mg/ekor/hari, dan pada kelompok E dosis yang diberikan sebanyak 120 mg/ekor /hari.

4.4.3. Preparasi Ekstrak Kering Biji Petai cina (*Leucaena leucocephala*)

Metode pembuatan ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) berdasarkan Aderibigbe et al (2011) biji petai cina dibersihkan dan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering. Menurut Pramono (2006)

Pengeringan dengan matahari langsung merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan

4.4.4. Pembuatan Ekstrak air biji petai cina

Metode pembuatan ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dilakukan dengan menggunakan pelarut air. Biji petai cina yang telah kering kemudian ditimbang sebanyak 120 mg untuk kelompok C, 240 mg untuk kelompok D, dan 480 mg untuk kelompok E. Biji petai cina kemudian dimasukkan kedalam masing-masing *baeker glass* yang berisi aquades 50 mL. Selanjutnya direbus pada temperatur 70°C hingga air rebusan tinggal 10 mL dan disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*). Diagram alir pembuatan ekstrak air biji petai cina disajikan dalam **Lampiran 3**. Sediaan ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dipersiapkan setiap hari selama 14 hari.

4.4.5. Preparasi hewan model hiperlipidemia dengan induksi PTU 0,02% dan kuning telur

Hewan hiperlipidemia dibuat berdasarkan penelitian Febrina dkk (2009) yaitu dengan pemberian PTU 0,02% dan kuning telur yang diberikan secara sonde lambung. PTU 0,02% diberikan sebanyak 10 mL/kg BB dan kuning telur diberikan sebanyak 10 mL/kg BB setiap hari selama 10 hari. Diagram alir preparasi hewan model hiperlipidemia dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Tikus kelompok B diberikan PTU 0,02% sebanyak 1,2 mL/ekor/hari dan kuning telur sebanyak 1,2 mL/ekor/hari dengan sonde kemudian diberikan

pakan standar sebanyak 16,78 gr/ekor /hari 1 jam setelahnya selama 10 hari, tikus kelompok C, D dan E diberikan PTU 0,02% sebanyak 1,2 mL/ekor/hari dan kuning telur sebanyak 1,2 mL/ekor/hari dengan sonde kemudian diberikan pakan standar sebanyak 16,98 gr/ekor/hari 1 jam setelahnya selama 10 hari, sedangkan pada kelompok A diberikan pakan standar sebanyak 20 gram/ekor/hari selama 10 hari dan air minum secara *ad libitum*.

4.4.6. Terapi Ekstrak Air Biji Petai cina (*Leucaena leucocephala*)

Metode pemberian terapi ekstrak air biji petai cina dilakukan dengan cara per oral berdasarkan Syamsudin dan Nurhasanah (2005). Diagram alir pembuatan ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) disajikan dalam **Lampiran 3**. Tikus pada kelompok yang telah diinduksi hiperlipidemia selama 10 hari, diterapi dengan ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dosis 0,25 g/kg BB pada kelompok C, dosis 0,5 g/kg BB pada kelompok D dan dosis 1 g/kg BB pada kelompok E diberikan selama 14 hari setelah pemberian induksi hiperlipidemia. Pemberian dilakukan dengan cara sonde lambung. Ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) diberikan sebanyak 2,5 mL/hari dengan dosis 0,25 g/kg BB untuk kelompok C, 2,5 mL/hari dengan dosis 0,5 g/kg BB untuk kelompok D, dan sebanyak 2,5 mL/hari dengan dosis 1 g/kg BB untuk kelompok E. Pemberian terapi dilakukan selama 14 hari.

4.4.7. Pengambilan Sampel Serum dan Aorta

4.4.7.1 Pengambilan sampel serum *Pre Examination*

Serum darah digunakan untuk pemeriksaan kadar lipid kolesterol total sebelum dilakukan perlakuan. Serum diambil sebelum dilakukan perlakuan. Tikus

terlebih dahulu diletakkan di alat *restrain* tikus, kemudian darah diambil dari vena ekor (*vena coccygeal*) dengan cara menggunting ± 1 mm ekor. Kemudian darah tersebut dimasukkan dalam *ependorf* diletakkan posisi miring 45°C dan dibiarkan mengendap pada suhu kamar selama $\pm 3,5$ jam dan disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 300 rpm. Selanjutnya serum tersebut diambil, dimasukkan dalam tabung *ependorf* dan disimpan di *refrigerator*.

4.4.7.2 Pengambilan Sampel Serum dan Pembuluh Darah AortaPost

Examination

Serum digunakan untuk mengukur kadar kolesterol total serum tikus pada hari ke 24 setelah perlakuan. Darah diambil melalui jantung. Sebelum dilakukan pengambilan darah dan pembuluh darah aorta, langkah awal yang dilakukan yaitu mendislokasi hewan coba pada bagian leher. Tikus diletakkan pada posisi *ventrodorsal*, kemudian dilakukan pembedahan pada bagian thorax. Insisi pada bagian thorax dan kulit dan musculus dikuakkan. Thorax diinsisi pada *cartilago costae* kemudian dikuakkan. Darah diambil melalui jantung dengan spuit 5 ml. Darah tersebut kemudian dimasukkan dalam *ependorf* diletakkan pada posisi miring 45°C dan dibiarkan mengendap pada suhu kamar selama $\pm 3,5$ jam dan disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum tersebut diambil, dimasukkan dalam tabung *ependorf* dan disimpan di *refrigerator*.

Aorta digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi. Aorta diperoleh dengan mengeluarkan jantung dan isi abdomen. Aorta diambil dari thorax hingga abdomen dan kemudian dimasukkan dalam larutan *paraformaldehyde* (PFA) 4%.

4.4.8. Pemeriksaan Kadar Kolesterol Total

Pemeriksaan kadar kolesterol total dilakukan dengan spektrofotometri yang terdiri dari pembuatan regensia, pengukuran absorbansi larutan blanko dengan spektrofotometer, dan pengukuran nilai absorbansi kolesterol serum darah yang dilakukan secara otomatis dengan alat Biosystem tipe A 15. Diagram alir pemeriksaan kadar kolesterol total ditampilkan pada **lampiran 5**. Pembuatan regensia dilakukan dengan cara mencampur *phenol* 28 mmol/L, *4-amino antipirin* 0,5 mmol/L, *cholesterol esterase* > 0,1 U/mL, *peroxidase* > 0,8 U/mL, *pipes buffer* 35 mmol/L, *sodium cholate* 0,5 mmol/L. Pengukuran larutan blanko dilakukan dengan mengukur absorbansi 300 μ l regensia menggunakan spektrofotometer pada λ 505 nm selama 5 menit. Pengukuran nilai absorbansi kolesterol serum dilakukan dengan mencampurkan 300 μ l regensia dengan 3 μ l sampel dan dicuci dengan *washing buffer* 12 μ l, kemudian diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer pada λ 505 nm selama 5 menit dengan larutan blanko sebagai titik nolnya.

4.4.9. Pembuatan Preparat Histopatologi Pembuluh Darah Aorta

Langkah-langkah dalam proses pembuatan preparat histopatologi berdasarkan Lamanepa (2005) yaitu :

4.4.9.1. Fiksasi

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan. Jaringan aorta sepanjang 5 cm difiksasi dengan formalin buffer 10% selama 18-24 jam.

4.4.9.2. Dehidrasi

Dehidrasi proses pengeluaran air dari dalam jaringan yang telah difiksasi. Jaringan dimasukkan dalam aquades selama 1 jam kemudian didehidrasi dengan alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, 90% sampai alkohol absolute.

4.4.9.3. Penjernihan (Clearing)

Penjernihan (Clearing) merupakan proses mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Jaringan dimasukkan ke larutan alkohol xylol selama 1 jam, larutan xylol murni selama 2 x 2 jam, parafin cair 2 x 2 jam.

4.4.9.4. Embedding

Embedding merupakan proses untuk mengeluarkan cairan clearing agent dari jaringan dan diganti dengan parafin. Jaringan aorta dicelupkan ke dalam parafin cair yang telah dituang ke dalam wadah hingga parafin memadat.

4.4.9.5. Pemotongan (*Sectioning*) dan penempelan pada gelas objek

Jaringan dipotong dengan blok parafin dengan mikrotom setebal 4 mikron, secara cross section/ melintang. Irisan diletakkan pada poly-L-lysine slide. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hot plate* 38 – 40 °C sampai kering. Selanjutnya preparat disimpan dalam inkubator pada suhu 38 – 40 °C selanjutnya siap untuk diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

4.4.9.6. Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Pewarnaan HE ini terdiri dari zat warna yaitu hematoklin dan eosin. Preparat dimasukkan dalam larutan xylol 1 dan 2 selama 5 menit, kemudian dimasukkan dalam etanol bertingkat yang dimulai dari etanol absolut, 95%, 90%, 80%, dan 70% selama 5 menit. Jaringan kemudian direndam dalam aquades selama 5 menit. Preparat selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin selama 10 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan dibilas aquades selama 5 menit. Setelah itu, preparat diwarnai dengan pewarna eosin selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir selama 10 menit dan dibilas aquades selama 5 menit. Setelah preparat diwarnai, preparat dimasukkan pada alkohol dari 80%, 90%, dan 95% hingga alkohol absolut. Selanjutnya preparat dimasukkan kedalam larutan xylol 1-3 selama 3 menit dan dikering anginkan. Terakhir, dilakukan perekatan menggunakan balsem canada serta ditutup menggunakan *coverglass*.

4.4.9.7. Pengamatan preparat histologi

Hasil pembuatan preparat histologi jaringan aorta menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX 51 perbesaran lemah (400x) untuk melihat adanya perubahan jaringan aorta berupa kerusakan endotel disekitar tunika intima secara kualitatif deskriptif.

4.5. Analisis Data

Perubahan pada pembuluh darah aorta diamati secara kualitatif deskriptif dengan membandingkan gambaran histopatologi aorta dari masing-masing kelompok perlakuan, perubahan kadar total kolesterol serum darah pada

post examination diamati secara kuantitatif yang kemudian dianalisis dengan SPSS versi 20,0 dengan analisis ragam one way ANOVA dan dilakukan analisis lebih lanjut dengan uji Tukey ($\alpha = 0,05$) apabila terdapat perbedaan nyata.



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Kadar Kolesterol Total Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperlipidemia Setelah Pemberian Ekstrak Air Biji Petai Cina

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar kolesterol total pada tikus, didapatkan dengan pengukuran nilai absorbansi yang dilakukan menggunakan metode CHOD-PAP (spektrofotometri) kolesterol total ditetapkan langsung dalam serum dengan satu sisi reaksi ester kolesterol yang dihidrolisis, gugus 3-OH dioksidasi, kemudian hydrogen peroksida yang merupakan salah satu hasil reaksi ditetapkan secara enzimatik. Pembacaan nilai absorbansi pada larutan sampel juga dilakukan sebanyak 6 kali atau selama 60 menit untuk menghasilkan nilai absorbansi yang konstan. Hasil pengukuran kadar kolesterol total pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Kelompok Perlakuan	Rataan Kadar Kolesterol Total (mg/dL)	Kadar Kolesterol Total (%)	
		Peningkatan	Penurunan
A Kontrol Negatif	34,25 ± 4,92 ^a	-	-
B Kontrol Positif	100,75 ± 5,05 ^d	194,1	-
C Terapi Dosis 0,25 g/kg BB	85,00 ± 4,16 ^c	-	15,6
D Terapi Dosis 0,5 g/kg BB	68,25 ± 4,57 ^b	-	32,2
E Terapi Dosis 1 g/kg BB	39,00 ± 3,16 ^a	-	61,3

Keterangan: Perbedaan notasi a,b,c dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan

Berdasarkan **Tabel 5.1** diketahui bahwa tikus kelompok B (kontrol positif) berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok A (kontrol negatif). Hal tersebut ditunjukkan dengan notasi yang berbeda pada

kelompok A dan kelompok B. Hal ini sesuai dengan (Febrina, 2009) yang menyatakan bahwa pemberian diet hiperlipidemia berupa PTU konsentrasi 0,02% dengan volume pemberian 10 mL/kg BB dan kuning telur ayam dengan volume pemberian 10 mL/kg BB selama 10 hari dapat meningkatkan kadar kolesterol di dalam darah.

Nilai rata-rata kadar kolesterol total pada kelompok tikus kontrol negatif (34,25 mg/dL) berbeda signifikan terhadap kelompok hiperlipidemia dan merupakan standar rata-rata kadar kolesterol total pada serum tikus keadaan normal. Menurut Harini (2009), tikus memiliki kadar kolesterol total normal dengan nilai 10-54 mg/dL. Kadar kolesterol total tersebut di dalam tubuh berguna untuk membantu proses metabolisme dalam tubuh. Selain itu kolesterol juga memiliki fungsi membentuk membran untuk membentuk asam lemak di hati. Kolesterol nantinya akan berkonjugasi dengan zat-zat lain untuk membentuk garam empedu yang akan meningkatkan pencernaan dan absorbs lemak (Guyton, 2006).

Hasil analisa uji statistika (*One-Way ANOVA*) menggunakan SPSS 16 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air biji petai cina dapat menurunkan kadar kolesterol total secara signifikan ($p < 0,05$). Kelompok kontrol positif berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol negatif dan kelompok terapi. Dosis 1 g/kg BB merupakan dosis terbaik, karena mampu menurunkan kadar kolesterol total sebesar 61,3 % dan secara statistika dosis 1 g/kg BB berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok tikus yang diberi

perlakuan mampu menekan kenaikan kadar kolesterol total yang paling rendah pada tikus hiperlipidemia.

Nilai rata-rata kadar kolesterol total pada kelompok tikus kontrol positif (100,75 mg/dL) mengalami peningkatan kadar kolesterol total sebesar 194,1 % terhadap kontrol negatif. Menurut Voet and Voet (2011), terjadinya peningkatan kadar kolesterol total merupakan akibat dari pemberian lemak yang masuk ke dalam tubuh dan dicerna dalam usus halus dan diangkut oleh kilomikron untuk dihidrolisis oleh lipoprotein lipase menghasilkan asam lemak bebas. Akibat dari reaksi tersebut kilomikron akan mengecil dan disebut kilomikron sisa. Kilomikron sisa akan bersikulasi membawa kolesterol ke hati, kemudian akan diserap oleh reseptor khusus melalui mekanisme *specific receptor mediated endocytosis* (Voet and Voet, 2011). Hati memproduksi VLDL (*Very Low Density Protein*) untuk mengangkut kolesterol dan trigliserida dari hati menuju jaringan adiposa. Sama halnya yang terjadi dengan kilomikron, selanjutnya VLDL ini akan mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase dalam pembuluh darah dan menghasilkan IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*), hidrolisis lebih lanjut menghasilkan LDL (*Low Density Lipoprotein*). Lalu partikel LDL akan diendositosis oleh asinar setelah terlebih dahulu diikat oleh reseptor LDL dan terjadilah kondisi hiperlipidemia (Voet and Voet, 2011).

Pemberian ekstrak air biji petai cina mampu menurunkan kadar kolesterol total. Semua kelompok terapi memberikan pengaruh yang

signifikan ($p < 0,05$), terhadap penurunan kadar kolesterol total. Kelompok dengan dosis pertama ekstrak air biji petai cina sebesar 0,25 g/kg BB didapatkan nilai rata-rata kadar kolesterol total sebesar 85 mg/dL menunjukkan angka yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif sebesar 34,25 mg/dL dengan presentase penurunan sebesar 15,6 %. Pada kelompok dosis kedua yakni 0,5 g/kg BB nilai rata-rata kadar kolesterol totalnya adalah 68,25 mg/dL mengalami penurunan kadar kolesterol total sebesar 32,2 %. Sedangkan pada dosis 1 g/kg BB nilai rata-rata kadar kolesterol total adalah 39 mg/dL dan mengalami penurunan kadar kolesterol total sebesar 61,3 % dibandingkan dengan kelompok positif. Namun ketiga kelompok dosis terapi memiliki nilai rata-rata kadar kolesterol total yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 100,75 mg/dL (**Tabel 5.1**). Berdasarkan rata-rata dan penurunan kadar kolesterol total tersebut dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak air biji petai cina mampu menurunkan kadar kolesterol total.

Semakin tinggi dosis ekstrak air biji petai cina yang diberikan, maka semakin besar penurunan kadar kolesterol total dan kelompok terapi terbaik ditunjukkan pada kelompok dengan pemberian dosis 1 g/kg BB yang menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol positif dan mampu menurunkan kadar kolesterol total sebesar 61,3 %.

Hal ini membuktikan bahwa ekstrak air biji petai cina mengandung senyawa aktif flavonoid yang mampu bekerja sebagai antioksidan untuk

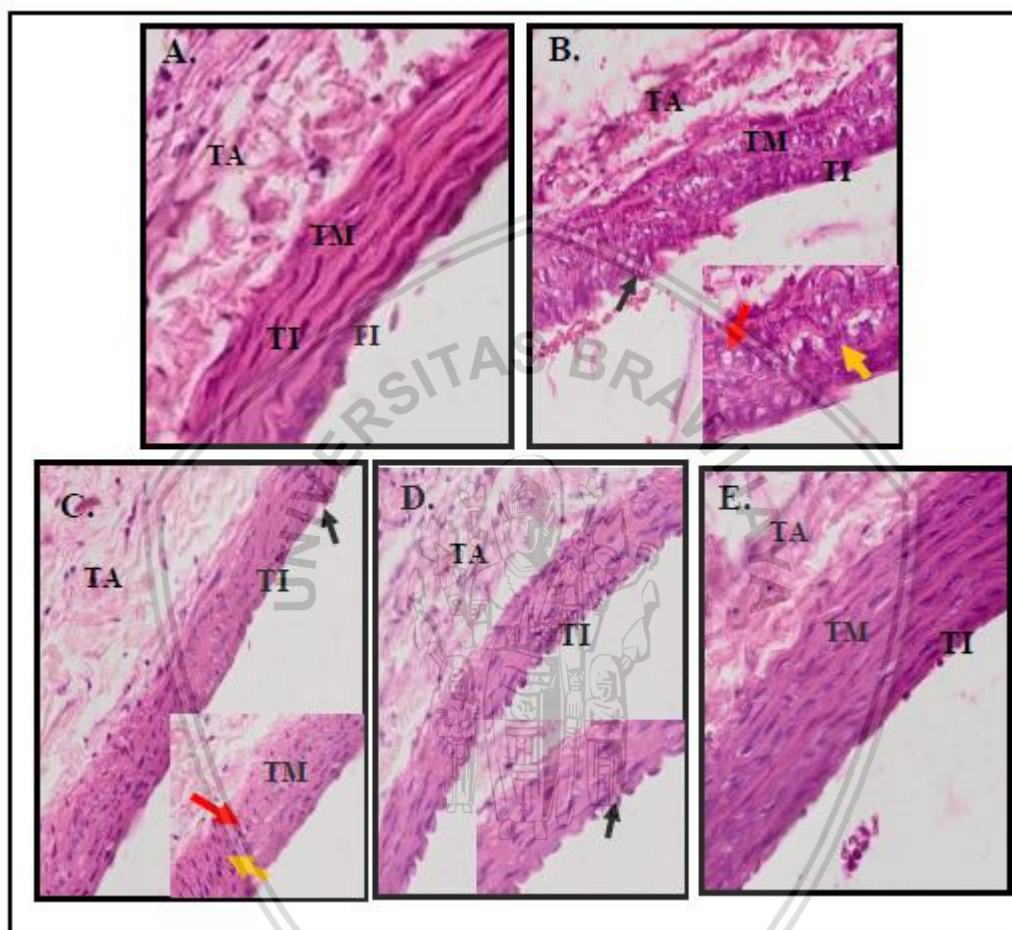
menurunkan kadar kolesterol total dalam tubuh akibat reaksi oksidasi pada makanan karena ekstrak air biji petai cina mampu mengikat radikal bebas di dalam tubuh yang disebabkan hiperlipidemia sehingga mampu menekan terjadinya stres oksidatif yang akan menyebabkan peroksidasi lipid di dalam membran sel. Senyawa flavonoid dalam ekstrak biji petai cina akan berikatan dengan berbagai gula dan sangat mudah terhidrolisis atau mudah lepas dari gugus gulanya disebut aglikon (Heranani 2004).

Kandungan serat larut air yang dimiliki salah satunya adalah polisakarida pectin yang menurut Nurdin (2008) merupakan antioksidan yang potensial untuk mencegah pembentukan radikal bebas dengan melapisi lapisan mukosa usus halus sehingga tidak terjadi penyerapan lemak secara signifikan. Menurut Astuti (2008) Biji petai cina mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai oksidan. Penelitian yang dilakukan pada tikus oleh Sulistyawati (2007) menunjukkan bahwa flavonoid yang terdapat pada biji petai cina dapat menekan peningkatan kadar kolesterol total dan trigliserida serum.

5.2. Gambaran Histopatologi Aorta pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperlipidemia Setelah Pemberian Ekstrak Air Biji Petai cina dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pada penelitian ini selain menggunakan parameter kadar kolesterol total juga menggunakan parameter histopatologi aorta menggunakan *Hematoxyline Eosin* (HE). Hasil penelitian pengaruh pemberian terapi ekstrak air biji petai cina terhadap gambaran histopatologi aorta abdominalis dengan pewarnaan

hematoxyline eosin (HE) pada masing-masing kelompok perlakuan disajikan pada **Gambar 5.1**.



Gambar 5.1 Gambaran histopatologi aorta abdominalis tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan HE dengan perbesaran 400x.

Keterangan : (A) kelompok kontrol negatif menunjukkan tunika intima(TI), tunika media (TM) , dan tunika adventisia (TA) normal, (B) kelompok kontrol positif, (C) kelompok terapi ekstrak air biji petai cina dosis 0,25 g/kg BB (D) kelompok terapi ekstrak air biji petai cina dosis 0,5 g/kg BB, (E) kelompok terapi ekstrak air biji petai cina dosis 1 g/kg. Tanda panah merah (→) menunjukkan sel busa (*foam cell*). Tanda panah kuning (→) menunjukkan adanya disintegrasi sel otot polos dan jaringan ikat pada tunika media. Tanda panah (→) menunjukkan adanya kerusakan lapisan endotel pada dinding pembuluh darah.

Gambaran histologi aorta abdominal pada kelompok negatif (**Gambar 5.1A**) merupakan kondisi aorta normal yang ditandai dengan tidak ditemukan adanya sel busa atau *foam cell* pada tunika media maupun kerusakan pada lapisan endotel yang berada pada tunika intima. Pada keadaan hiperlipidemia (**Gambar 5.1B**) menunjukkan adanya kerusakan endotel dengan bentukan lapisan sel endotel pada tunika intima kasar, berbentuk tidak beraturan hingga terlepasnya sel endotel ke lumen. Pada lapisan tunika intima, monosit yang menempel pada lapisan endotel ini kemudian menyusup di antara lapisan endotel dan mengambil tempat di daerah subendotel untuk kemudian berubah menjadi *scavenger cell* dan berubah bentuk menjadi makrofag. Pada lapisan tunika media makrofag bermigrasi kemudian menelan dan membersihkan lemak terutama LDL yang sudah teroksidasi melalui reseptor khusus yang disebut reseptor *scavenger*. Sel *scavenger* ini kemudian menjadi sel busa (*foam cell*) terlihat pada **Gambar 5.1B**. Sel busa ini terdapat pada tunika media. Berkumpunya makrofag di daerah sub intima menyebabkan kerusakan endotel bertambah. Lapisan endotel pada tunika intima berinteraksi langsung dengan sel-sel otot polos pembuluh darah serta komponen cairan plasma darah, memegang peranan penting dalam sistem keseimbangan tubuh yang terjadi melalui integrasi kerja berbagai zat yang dikeluarkan oleh membran endotel. Sistem ini mempunyai efek yang baik terhadap sel-sel otot polos pada pembuluh darah maupun sel-sel darah (Sampurna, 2003).

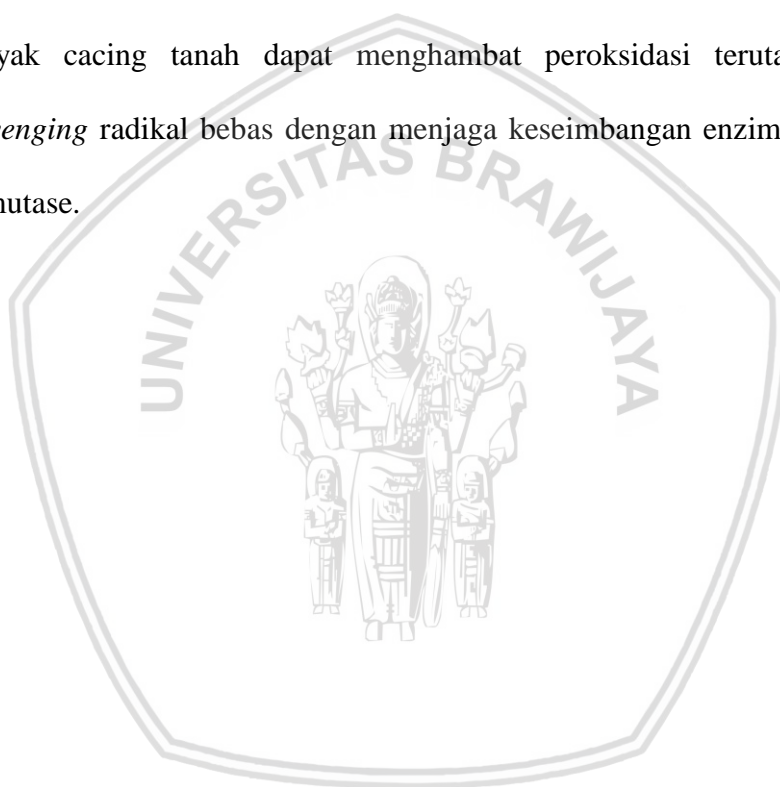
Namun pada keadaan hiperlipidemia (**Gambar 5.1B**) menyebabkan gangguan lapisan endotel pada tunika intima yang secara tidak langsung mempengaruhi integrasi kerja antara membran endotel dan sel-sel otot polos yang menyebabkan sel-sel otot polos pada kelompok positif mengalami disintegrasi sel-sel otot polos dan jaringan ikat pada tunika media. Dongoran (2007) menyatakan bahwa dalam keadaan normal aorta sel-lapisan endotel dapat mencegah masuknya lipoprotein dan monosit ke dalam dinding arteri, menjaga irama vaskuler dan mencegah koagulasi dan thrombosis. Namun lapisan endotel ini sangat sensitif terhadap berbagai macam bentuk luka, seperti stres oksidatif dan paparan terhadap sitokin inflamasi maupun kolesterol. Gambaran histopatologi pada kelompok C pemberian terapi ekstrak air biji petai cina dengan dosis 0,25 g/kg BB (**Gambar 5.1C**) masih menunjukkan adanya kerusakan pada membran endotel. Dan juga menunjukkan adanya sel busa dan disintegrasi jaringan ikat dan sel-sel otot polos pada tunika media. Kadar kolesterol yang meningkat memicu adhesi monosit masuk ke dalam lapisan sub endotel. Tingginya kadar LDL dalam plasma darah masuk ke dalam intima yang akan diubah menjadi LDL oksidasi oleh ROS atau radikal bebas. Penurunan proses peroksidasi lipid dapat mengurangi terjadinya kerusakan pada lapisan pembuluh darah. Pemberian terapi ekstrak air biji petai cina dengan dosi 0,25 g/kg BB dirancang untuk meminimalkan pengeluaran radikal bebas namun dari hasil gambaran histopatologi belum terjadi perubahan dibandingkan dengan kelompok negatif sehingga perlu

dilakukan peningkatan dosis untuk memperbaiki gambaran histopatologi aorta tikus hiperlipidemia.

Histopatologi aorta abdominalis pada kelompok D pemberian terapi ekstrak air biji petai cina dosis 0,5 g/kg BB (**Gambar 5.1D**) memperlihatkan masih terlihat adanya gangguan pada lapisan endotel pada dinding pembuluh darah dilihat dari struktur dinding pembuluh darah aorta dan juga lapisan endotel pada tunika intima. Terjadi perubahan yakni berkurangnya sel busa pada tunika media dan jaringan ikat serta sel otot polos pada lapisan tunika media lebih padat dibandingkan dengan terapi ekstrak air biji petai cina dosis 0,25 g/kg BB. Pada terapi ekstrak air biji petai cina dosis 0,5 g/kg BB memperlihatkan perubahan yakni berkurangnya sel busa pada tunika media dan jaringan ikat serta sel otot polos pada lapisan tunika media lebih padat dibandingkan dengan terapi ekstrak air biji petai cina dosis 0,25 g/kg BB. Luka endotel juga meningkatkan peptida vasoaktif yang membuat permeabilitas endotel meningkat, sehingga terbentuk rongga antar sel (Beers, 2003).

Berkurangnya sel busa pada gambaran histopatologi kelompok D ini disebabkan karena kandungan flavonoid dalam ekstrak air biji petai cina yang mampu menurunkan permeabilitas dari lapisan endotel sehingga dapat mencegah masuknya adhesi monosit ke dalam pembuluh darah yang dapat menyebabkan terbentuknya sel busa. Pada kelompok E (**Gambar 5.1E**) yang diberikan ekstrak air biji petai cina dosis 1 g/kg BB menunjukkan gambaran mikroskopik aorta yang normal, dimana tidak terdapatnya sel-sel busa pada tunika media dan tidak terlihat lagi adanya gangguan pada lapisan endotel pada dinding pembuluh darah. Pemberian terapi ekstrak air biji petai cina

dosis 1 g/kg BB sudah efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia secara signifikan ($p < 0,05$). Pemberian terapi ekstrak air biji petai cina dosis 1 g/kg BB pada tikus (*Rattus norvegicus*) berpotensi dalam mengurangi kerusakan gambaran histopatologi aorta dengan melindungi membran endotel dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan membran sel melalui radikal bebas dan minyak cacing tanah dapat menghambat peroksidasi terutama melalui *scavenging* radikal bebas dengan menjaga keseimbangan enzim superoksida dismutase.





BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pemberian terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dengan dosis 1 g/kg BB merupakan dosis efektif dalam menurunkan kadar kolesterol total pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia sebesar 61,3 %.
2. Pemberian terapi ekstrak air biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) dengan dosis 1 g/kg BB merupakan dosis efektif dalam memperbaiki kerusakan gambaran histopatologi aorta abdominal tikus (*Rattus norvegicus*) hiperlipidemia berupa berkurangnya kerusakan pada lapisan endotel dinding pembuluh aorta dan sel busa (*foam cell*) pada tunika media.

6.2 Saran

Untuk mengetahui efek lebih lanjut penggunaan dari ekstrak air biji petai cina terhadap kadar Kolesterol Total dan perubahan histopatologi aorta, maka diperlukan penelitian yang lebih lanjut mengenai dosis ≥ 1 g/kg BB.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, S. 2008. *Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas*. Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian Volume 13.
- Beers. M.H., Fletcher and Jones. 2003. *Aneurysms and Aortic Dissection*. The Merck Manual of Medical Information, 2nd ed. USA, Merck & Co., Inc. 204-208.
- Carjavall-zarraball.O, S.M. Waliszewski., D.M. Barradas-ermitz, Z orta-floress Hayward-jones., C. Nolasco-hipolito., Angulo-guererro., S. Rican., Infaso, and P.R.L. Trujillo. 2005. *The Consumption of Hibiscus Sabdariffa Dried Calyx Ethanolic Extract Reduced Lipid Profile in Rats*. Plant Foods for Human Nutrition. 60:153-159.
- Cheng..J, And R.W. Hardy. 2004. *Protein and Lipid Sources Affect Cholesterol Concentration of Juvenile Pacific White Shrimp, LitopenaeusVannamei* (Boone). J Anim. Sci. 82:1136-1145.
- Dalimartha, S., Mooryati, S., BR. A. 2000, *Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*, Trubus Agriwidya, Semarang, 1-8.
- Febrina, E. 2009. *Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Herba Seledri (Apium graveolens L.) Dari Daerah Bandung Barat*. Universitas Padjajaran Bandung.
- Ghani, N., L.I.Momuat., dan m.MPitoi. 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschusmanihot L)*. Jurnal Mipa Unsrat 2 (1):44-49.
- Harini, M. 2009. *Kadar Kolesterol Darah Dan Ekspresi VCAM-1 Pada Endotel Aorta Tikus Putih (Rattus norvegicus L) Hiperkolesterolemik Setelah Perlakuan VCO* [Skripsi]. Pascasarjana Program Studi Biosains. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Herpandi. 2005. *Aktivitas Hiperkolesterolemik Tepung Rumput Laut Pada Tikus Hiperkolesterolemia*. (Tesis). Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Ikechuckwu.C.F., Eliakim, and E.B.Riman. 2009. *The Effect of Aqueous Ethanolic Extract of Alchornea Cordifolia Leaf On The Histology of The Aorta of Wistar Rats*. Nigerian Journal Of Physiological Sciences 24 (2): 149-151.
- Junquiera,C., J. Carneiro dan K.O. Kelly, 1997. *Histologi Dasar* (diterjemahkan oleh Yan Tambayong). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kardong, K. V. 2002. *Vertebrates Company Anatomy, Function, Evolution. 3'ded.* Mc Graw Hill Companies Inc.NewYork : 529-547.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. UGM Yogyakarta. Yogyakarta.
- Lamanepa, E.L.M. 2005. *Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis Pada Tikus Wistar Jantan Yang Diberi Diet Perasan Pare Dengan Diet Perasan Pare Dan Statin*. (TESIS). Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
- Murray, Robbert K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V. W., 1999, *Biokimia Harper*, Edisi 24, Diterjemahkan oleh Andy Hartono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 174-175.
- Prasetyo, Awaldan U. Sadhana. 2006. *Aspek Seluler dan Molekuler Aterosklerosis*. Media medika muda. <http://eprints.undip.ac.id/1488/>. Diakses 10 Desember 2014
- Sampurna, 2003. *Pengaruh Ekstrak Allium sativum Terhadap Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis Tikus Wistar Yang Telah Diinduksi Adrenalin dan Diet Kuning Telor*. [Tesis]. Program Magister Ilmu Biomedik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Smith,JB., dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press : Jakarta.
- Suryohudoyo, P. 2000. *Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler*. CV Sagung Seto. Jakarta

Taylor, RB., AK David, SA Fields, M Philips, JE Scherger, DE Anisman, ,*et al.* 2005. *Cardiovascular Handbook*, Springer Science and Business Media, Inc. 151, 152, 157, 163, 164.

Xenoulis, P. G., and J. M. Steiner. 2010. *Lipid Metabolism and Hyperlipidemia in Dogs*. The Veterinary Journal 183:12 – 21



